



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA ORAL

MARA LUANA BATISTA SEVERO

IMUNOEXPRESSÃO DE RECEPTORES DE CALCITONINA E
CORTICOSTEROIDES EM LESÕES CENTRAIS DE CÉLULAS GIGANTES DOS
OSSOS MAXILARES

NATAL/RN

2016

Mara Luana Batista Severo

IMUNOEXPRESSÃO DE RECEPTORES DE CALCITONINA E CORTICOSTEROIDES
EM LESÕES CENTRAIS DE CÉLULAS GIGANTES DOS OSSOS MAXILARES

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Patologia Oral da Universidade Federal do Rio Grande do
Norte, como requisito para a obtenção do título de mestre em
patologia oral

Orientadora: Prof^ª Dra Éricka Janine Dantas da Silveira

NATAL/RN

2016

Catálogo na Fonte. UFRN/ Departamento de Odontologia
Biblioteca Setorial de Odontologia “Profº Alberto Moreira Campos”.

Severo, Mara Luana Batista.

Imunoexpressão de receptores de calcitonina e corticosteroides em
lesões centrais de células gigantes dos ossos maxilares/ Mara Luana
Batista Severo. – Natal, RN, 2016.


54 f.: il.


Orientadora: Profª Dra Éricka Janine Dantas da Silveira.


Dissertação (Mestrado em Patologia Oral) – Universidade Federal
do Rio Grande do Norte. Centro de Ciências da Saúde. Departamento
de Odontologia.

A defesa deste trabalho foi realizada no dia 25 de fevereiro de 2016, em Natal/RN, tendo sido aprovada com conceito "A".

COMISSÃO EXAMINADORA


Prof. Dr. Gustavo Pina Godoy
Universidade Federal de Pernambuco
1º Examinador


Profa. Dra. Márcia Cristina da Costa Miguel
Universidade Federal do Rio Grande do Norte
2º Examinador


Profa. Dra. Éricka Janine Dantas da Silveira
Universidade Federal do Rio Grande do Norte
3º Examinador

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho, bem como todas as minhas demais conquistas, a minha amada mãe Francisca Eliete Batista Severo, que me deu a vida, amor e oportunidade acreditando em meus sonhos em todos os momentos de nossas vidas. Obrigada mamãe pela paciência, dedicação, cuidado, assistência, carinho, desde o primeiro momento da minha existência.

Valeu a pena toda distância, todos os momentos de saudade e renúncia, valeu a pena esperar.

AGRADECIMENTOS

Quero agradecer, em primeiro lugar, a Deus, pela força e coragem durante toda esta longa caminhada. Ao meu pai José Severo Neto e a minha adorada irmã Malu Batista Severo e a todos os meus demais familiares que me ajudaram durante minha trajetória de vida. Em especial, ao meu tio Ermano Batista da Costa pela dedicação, cuidado, assistência, carinho em todos os momentos.

Aos meus amigos e colegas por todo apoio e cumplicidade, pois mesmo quando distantes, estavam presentes em minha vida.

Agradeço a todos os meus mestres Leão Pinto, Lélia Batista, Lélia Maria, Hébel Galvão, Roseana Freitas, Márcia Miguel, José Lisboa, Ana Mirian, Patrícia Teixeira e Bruno Gurgel, por proporcionar o conhecimento que foi fundamental na minha formação, bem como pela maneira ética que me incentivaram a trilhar esse caminho repleto de novos saberes.

De forma especial a Prof^ª Dra Éricka Janine Dantas da Silveira, pela confiança, apoio e orientação, que foram peças fundamentais no meu aprendizado durante essa trajetória. Obrigada pela disponibilidade de ajudar e ensinar sempre.

Aos meus colegas de turma Hugo, Angélica, Eduardo, Luiz Arthur, Marianna, Amanda, Patrícia e Rodrigo pelo companheirismo durante esse tempo em que estivemos juntos. Em especial as “atípias” Jefferson (Jeffe), Leorik (Leo) e Thalita, obrigada pela paciência, carinho e amizade, vocês fizeram meus dias mais felizes nesse tempo em que convivemos juntos, com certeza esta caminhada não seria a mesma sem vocês.

Aos demais colegas doutorandos que fazem parte da grande família patologia Denise, Ana Luíza, Natália, Melka, Andréia, Marcelo, Rose, Thiago, Viviane, Salomão, Rafaela,

Luciana, em especial a doutoranda Maria Luiza (Malu) pela disponibilidade de ajudar, obrigada “irmã patológica” por me transmitir um pouco de seu conhecimento científico.

A todos os funcionários da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, em especial aos funcionários que compõem a família do programa de pós-graduação e Patologia Oral, Gracinha, Lurdinha, Sandrinha, Idelzuite, Ricardo e Hevio pela disponibilidade de sempre ajudar.

A esta Universidade, direção e administração que oportunizaram a janela que hoje vislumbro um horizonte superior.

Agradeço a Comissão de Aperfeiçoamento de Pessoal do Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro que me permitiu concluir esse mestrado.

E a todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação.

Meus singelos e sinceros agradecimentos.

“As alegrias costumam ser preparadas no silêncio das duras esperas.”

Padre Fábio de Melo.

SUMÁRIO

1	REFERENCIAL TEÓRICO	9
2	OBJETIVOS	17
2.1	OBJETIVOS GERAIS	17
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
3	ARTIGO:Imunoexpressão de receptores de calcitonina e corticosteroides em lesões centrais de células gigantes dos ossos maxilares	19
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS	41
	REFERÊNCIAS	43
	APÊNDICE	50
	ANEXOS	53

REFERENCIAL TEÓRICO

1. REFERENCIAL TEÓRICO

As lesões centrais de células gigantes (LCCGs) dos ossos maxilares constituem um grupo de lesões incomuns, já que representam cerca de 7% de todas as lesões benignas dessa região (REDDY et al., 2012). A Organização Mundial da Saúde (OMS) define as mesmas, como lesões constituídas por tecido fibrocelular que contém múltiplos focos hemorrágicos, agregados de células gigantes multinucleadas e ocasionalmente trabéculas ósseas (BARNES et al., 2005).

Ocorrem com maior frequência em adultos jovens, do sexo feminino, com predileção pela região anterior da mandíbula (STAVROPOULES; KATZ, 2002; VERED; BUCHNER; DAYAN, 2006b; NOLETO et al., 2007; JAMSHIDI et al., 2015). Reddy et al. (2012) em sua pesquisa realizada na Índia, avaliaram 30 casos LCCGs, no qual encontraram que a maioria dos casos estudados tinha menos de 30 anos de idade com uma proporção do sexo feminino para o masculino de 1.3:1. Dos 26 pacientes estudados por Kruse-Lösler et al. (2006), 69.2% dos casos acometeram a mandíbula.

Radiograficamente a LCCG pode variar de pequenas lesões apicais a grandes radiolucências multiloculares, destrutivas e envolver grandes áreas dos ossos maxilares. O aspecto clínico das LCCGs pode variar desde achados ocasionais e assintomáticos a expansão de cortical que pode acarretar em aumento de volume, dor, parestesia, mobilidade dentária e em raros casos obstrução nasal (BARNES et al., 2005). (STAVROPOULES; KATZ, 2002; DE LANGE; VAN DEN AKKER, 2005; NOLETO et al., 2007; AMIRCHAGHMAGHI et al., 2010; AGHBALI et al., 2013; OSTERNE et al., 2013).

Com base nas características clínicas e radiográficas, Chuong et al. (1986), classificaram as LCCGs como agressivas ou não agressivas e consideraram como parâmetros de agressividade, a sintomatologia dolorosa, expansão e/ou perfuração da cortical óssea, reabsorção radicular e uma alta tendência à recorrência, critérios esses que ainda são adotados na atualidade. As lesões consideradas não agressivas são caracterizadas por exibir crescimento lento, geralmente serem assintomáticas, sem destruição da cortical óssea e/ou reabsorção de raízes dentárias. Para Kaban et al. (2002) e Pogrel (2003) esses fatores devem ser considerados para a escolha do tratamento.

A patogênese da LCCG tem sido bastante estudada, porém, ainda não está completamente esclarecida e sua natureza ainda é controversa. Em 1953 Jaffe inicialmente descreveu essa lesão caracterizando-a pelo seu caráter reativo e de remissão espontânea e

sugeriu o termo granuloma reparador de células gigantes. Mais tarde a hipótese neoplásica foi reforçada por Whitaker e Waldron (1993) para explicar o subtipo agressivo dessa lesão. Esses autores sugeriram que o comportamento biológico agressivo de algumas LCCGs assemelha-se ao tumor de células gigantes (TCG) dos ossos longos e foi proposto que essas lesões pertenceriam a um mesmo espectro de lesões.

Diante das diferenças no comportamento clínico e na resposta ao tratamento, Regezi e Pogrel em 2004, sugeriram que ambas as hipóteses são verdadeiras, isto é, parte das lesões pode ser reativas outras podem ser neoplásicas. Esses autores reforçaram essa hipótese com base em suas características histopatológicas, características biológicas dinâmicas e padrão clínico variado.

Outra dificuldade em relação à LCCG é a falta de compreensão em relação a sua célula de origem, fundamental para o melhor entendimento dos mecanismos moleculares envolvidos no desenvolvimento dessa lesão (KABAN et al., 1999).

Neste contexto, estudos imuno-histoquímicos utilizando marcadores para osteoclastos/macrófagos encontrou-se que células gigantes multinucleadas possuem características de ambos os tipos de células (TIFEE; AUFDEMORTE, 1997; TORABINIA; RAZAVI; SHOKROLAHI, 2011). Apesar das células gigantes multinucleadas serem o componente mais abundante nas LCCGs dos ossos maxilares, o papel das células mononucleares passou a ser bastante estudado, uma vez que Kauzman et al. (2004) mostraram que as células mononucleares constituem o componente proliferativo, responsável pela atividade biológica da lesão.

Embora já exista algum avanço no entendimento da patogênese das LCCGs dos ossos maxilares, ainda se fazem necessárias novas investigações para entender este grupo enigmático de condições, existindo ainda muitos pontos a serem definidos a respeito da patogênese dessas lesões (EDWARDS, 2015).

A etiologia das LCCGs é bastante discutida, pois tanto fatores locais quanto sistêmicos podem estar envolvidos, além da possível associação a fatores genéticos (POGREL et al., 1999; FRANCO et al., 2003; ITONAGA et al., 2003; POGREL, 2003; GOMES et al., 2007; DE LANGE; VAN DEN AKKER; VAN DEN BERG, 2007; CARVALHO et al., 2009).

Dos fatores locais, podem ser citados o trauma e danos vasculares, os quais produziram hemorragia intramedular e o tecido conjuntivo de forma exacerbada tentaria substituir o tecido ósseo (FRANCO et al., 2003; ITONAGA et al., 2003). Dentre os fatores sistêmicos citam-se, a Neurofibromatose tipo I, a síndrome de Noonan e os distúrbios

hormonais, como a gravidez (GOMES et al., 2007; DE LANGE; VAN DEN AKKER; VAN DEN BERG, 2007).

Pogrel (2003) relatou que alterações genéticas podem estar implicadas na etiologia da LCCG. Ele sugeriu que as lesões que se comportam como neoplasmas, desenvolvem-se a partir de uma lesão reativa, por meio de um evento epigenético que ocorre com as células mesenquimais do osso, que resultam na perda de controle do ciclo celular, bem como, na expressão das proteínas capazes de recrutar monócitos e também de promoverem diferenciação em osteoclastos.

Ainda em relação à genética, mutações no gene SH3BP2, podem também ter relação com o desenvolvimento desta lesão em sua forma esporádica. A mutação do gene SH3BP2 é encontrada como a causa do querubismo, doença rara, que acomete predominantemente mulheres e apresenta características histopatológicas similares das apresentadas na LCCG (CARVALHO et al., 2009).

Estudos citogenéticos como os desenvolvidos por Manor et al. (2013) detectaram translocações em t(1; 18; 18) (p13; q11.2; q21) e t(2; 10) (q23; q24) em LCCGs isoladas.

Em seu estudo, Gomes et al. (2014) sugeriram que a identificação da mutação no gene H3F3A, pode ser uma ferramenta importante para auxiliar no diagnóstico diferencial entre LCCG e o Tumor de Células Gigantes dos Ossos Longos (TCGs) dos maxilares. Edwards (2015), sugeriu que os resultados encontrados no estudo de Gomes et al. (2014) parecem adicionar evidências que a LCCG dos ossos gnáticos é uma entidade diferente dos TCGs extragnáticos.

Histopatologicamente, as LCCGs caracterizam-se por apresentar células gigantes multinucleadas, células fusiformes, como fibroblastos ou miofibroblastos dispostos no interior do estroma de tecido conjuntivo fibroso e quantidade variada de infiltrado inflamatório (BARNES et al., 2005).

Com frequência são encontrados focos de tecido osteoide e trabéculas recém-formadas, particularmente na periferia da lesão, além de áreas de hemorragia com deposição de hemossiderina, bem como numerosos canais vasculares de pequenos calibres e figuras de mitoses (POGREL et al., 1999; WOO et al., 2013).

Para Chuong et al. (1986), não há diferenças histopatológicas entre os tipos agressivos e não agressivos das LCCGs. Alguns autores sugeriram que essas duas formas exibem achados histopatológicos similares, sendo a forma agressiva às vezes associada a um maior número de células gigantes (O'MALLEY et al., 1999; KRUSE-LÖSLER et al., 2006).

O tratamento cirúrgico ainda é o mais utilizado para as LCCGs, o qual varia desde enucleação e curetagem para as LCCG não agressivas, associado à criocirurgia em alguns casos (DE LANGE; VAN DEN AKKER; VAN DEN BERG, 2007), ou à ostectomia periférica em outros (EISENBUD et al., 1988). Quando a curetagem local é realizada de forma isolada, existem relatos de até 70% de taxa de recidiva, principalmente para as lesões agressivas (CHUONG et al., 1986; VERED et al., 2007).

Conforme Tarsitano et al. (2015), a escolha da modalidade terapêutica depende da classificação clínica das LCCGs. Para as não agressivas a curetagem geralmente é uma boa escolha. Segundo Regezi et al. (2013), a curetagem da massa tumoral, seguida da remoção das margens ósseas da periferia, resulta em um prognóstico bom e uma baixa taxa de recidiva.

Vered et al. (2007) relataram que o manejo dos pacientes portadores de LCCGs é um problema para os cirurgiões bucomaxilofaciais, pois a sua natureza localmente destrutiva e alta taxa de recorrência impossibilita em algumas situações que os procedimentos cirúrgicos sejam realizados sem comprometimento funcional e estético.

Nos últimos anos tem sido propostas outras modalidades terapêuticas não cirúrgicas, como a utilização de corticosteroides intralesionais e de calcitonina nasal, com o objetivo de tentar minimizar as sequelas causadas por tratamentos mais agressivos (NOGUEIRA et al., 2010; FERRETI et al., 2011; SHIRANI et al., 2011; TAMB UWALA; PATIL; AHMED, 2011; SAMPIERI et al., 2012; DOLANMAZ et al., 2015).

Dentre as opções terapêuticas não cirúrgicas, a injeção intralesional de corticosteroides vem sendo bastante utilizada por se tratar de uma técnica simples, de baixo custo, relativamente rápida e evita grandes mutilações (NOGUEIRA et al., 2010; TAMB UWALA; PATIL; AHMED, 2011; NOGUEIRA et al., 2012; SAMPIERI et al., 2012; DOLANMAZ et al., 2015).

Os corticosteroides podem ser administrados tanto de forma sistêmica, quanto aplicada diretamente no interior da lesão. Os glicocorticoides (GCs) pertencem à classe dos hormônios esteroides e seu representante natural é o cortisol ou hidrocortisona. Os GCs atuam atravessando a membrana lipoproteica das células, ligando-se a receptores citosólicos, exercendo sua ação no interior do núcleo, onde interagem com o ácido desoxirribonucleico (DNA) (ação genômica- mecanismo de ação tipo 1), ou com outras proteínas implicadas no processo de transcrição (ação não genômica, específica ou inespecífica-mecanismo de ação tipo 2) (BARNES, 2010).

Os GCs inibem a reabsorção óssea por induzir apoptose dos osteoclastos e reduzem assim a produção de proteases, além de inibir processos angiogênicos e inflamatórios (DE LANGE; VAN DEN AKKER; VAN DEN BERG, 2007; NOGUEIRA et al., 2010)

O primeiro relato da utilização deste medicamento em LCCG foi realizado por Jacoway, Howell e Terry (1988). Nos últimos anos, Carlos e Sedano (2002), Nogueira et al. (2010), Ferreti et al. (2011), Tambuwala, Patil e Ahmed (2011), Sampieri et al. (2012) e Dolanmaz et al. (2015) relataram sua utilização, obtendo significativa regressão na maioria das lesões.

A calcitonina é outra modalidade de tratamento não invasiva para a LCCG que vem sendo bastante utilizada. Esta foi descrita primeiramente por Harris em 1993. Neste trabalho, a calcitonina foi administrada por um período que variou de 12 a 34 meses em 4 pacientes portadores de lesão central de células gigantes com comportamento agressivo. Três deles mostraram resolução completa da lesão sem nenhuma recidiva após 5 anos de acompanhamento, o outro caso, depois de um ano, mostrou uma redução significativa de tamanho.

Regezi e Pogrel (2004), afirmaram que um dos agentes responsáveis pela inibição da osteoclastogênese é a calcitonina. Os osteoclastos expressam receptores de calcitonina (CTRs) e podem ser inibidos por ela. De Lange et al. (1999) relataram que a calcitonina pode inibir a motilidade das células gigantes multinucleadas e síntese de DNA. Baseados na hipótese de que células gigantes exibem características de osteoclastos, o emprego do hormônio calcitonina cresceu no tratamento de lesões com atividade osteoclástica, pois estas células tem suas funções inibidas diretamente pela mesma (HARRIS, 1993; DE LANGE et al., 1999). Sendo assim, a calcitonina passou a ser outra opção de tratamento conservador, seguro e eficaz para a LCCG (POGREL et al., 1999; POGREL, 2003; VERED et al., 2007; BORGES et al., 2008; ALLON; ANAVI; CALDERON, 2009).

A calcitonina é produzida pelas células C da glândula tireoide e atua na inibição da atividade osteoclástica, bem como na diminuição do cálcio sérico e na estimulação da atividade osteoblástica (O'REGAN; GIBB; ODELL, 2001). A utilização desse hormônio provoca um aumento no influxo de cálcio para o interior do osso, sendo essa, uma ação antagônica à ação do paratormônio. Esse fenômeno é produzido sob influência do nível de cálcio sérico no tecido intersticial da glândula tireoide, nas chamadas células C. Existe também uma pequena produção na glândula paratireoide e no timo (DE LANGE et al., 1999).

Existem disponíveis duas formas de calcitonina para uso terapêutico: calcitonina humana e a calcitonina de salmão. A calcitonina humana apresenta menores propriedades antigênicas, quando comparada à de salmão (DE LANGE et al., 1999).

A calcitonina humana é administrada pela via subcutânea, enquanto que a forma de salmão oferece a possibilidade de administração intranasal, além da subcutânea (DE LANGE et al., 1999; POGREL et al., 1999).

Um aspecto importante na utilização da calcitonina é que o seu uso prolongado pode causar uma significativa diminuição na expressão dos genes dos seus receptores. Logo, a calcitonina não inibe por muito tempo a ação dos osteoclastos e o mecanismo responsável por esse processo ainda é desconhecido (PONDEL, 2000).

Apesar de várias tentativas de tratamento, o comportamento clínico, biológico e a resposta das LCCGs ainda são inconsistentes e discutidas na literatura (VERED; BUCHNER; DAYAN, 2006a; NOGUEIRA et al., 2010; SAMPIERI et al., 2012; NOGUEIRA et al., 2012; DOLANMAZ et al., 2015).

Diante das variadas respostas dos pacientes a utilização da terapia clínica no tratamento das LCCG, algumas pesquisas tem sido realizadas com o objetivo de verificar se tais lesões exibem receptores para estas drogas, já que isso é essencial para uma boa resposta a mesma. Conforme Vered, Buchner e Dayan (2006a), o sucesso dessa terapia clínica pode ser mensurado em termos de redução da dimensão das lesões, que dessa forma podem ser submetidas à cirurgia mais conservadora e não necessariamente leva a completa resolução.

Tóbon-Arroyabe et al. (2005) foram os primeiros a investigar a presença desses receptores em LCCG agressivas e não agressivas e concluíram que as agressivas exibem níveis mais altos de expressão de receptores de glicocorticoides (GCRs).

Em seguida outros estudos investigaram essa relação entre a presença de GCRs e CTRs e a classificação em LCCGs agressivas e não agressivas (VERED, BUCHNER; DAYAN, 2006a; NOGUEIRA et al., 2012; MARTINS et al., 2015).

Para Vered, Buchner e Dayan (2006a), a cirurgia deve ser o tratamento de escolha para as lesões que demonstram fraca marcação para os GCRs e CTRs e ainda que a LCCG é uma lesão dinâmica onde o tratamento é ajustado de acordo com sua evolução.

Nogueira et al. (2012) encontraram que expressão do GCR nas células multinucleadas foi a mais alta nos pacientes com boa resposta ao tratamento clínico com glicorticoide (Triancinolona) e sugeriram que a expressão imuno-histoquímica dos GCRs pode fornecer uma ferramenta para seleção da estratégia terapêutica.

Martins et al. (2015) observaram que o grupo das LCCGs agressivas mostrou um maior número de células gigantes multinucleadas em comparação com o grupo não-agressivo ($P < 0,05$). Os autores concluíram que as LCCGs não agressivas e agressivas, não podem ser distinguidas por meio da expressão de GCR e CTR, embora o número de células gigantes multinucleadas possa ajudar a diferenciar os subtipos clínicos destas lesões.

Como mencionado, o comportamento clínico da LCCG varia amplamente e por isso é difícil prever o comportamento dessa lesão. Sua taxa de recidiva varia de 13% a 49% (VERED et al., 2007).

As controvérsias em relação à natureza da lesão e consequentemente as diferenças no seu comportamento clínico e resposta ao tratamento sugere que parte das LCCGs podem constituir lesões reativas e parte neoplásicas (REGEZI; POGREL, 2004; POGREL, 2003; VERED; BUCHNER; DAYAN, 2006b). Além disso, a dificuldade na compreensão da origem celular e dos mecanismos moleculares torna importante o desenvolvimento de novas ferramentas terapêuticas, já que a literatura aponta situações de falhas e sucesso no tratamento dessas lesões, quando se refere ao uso de agentes intralesionais e/ou nasais em pacientes portadores de lesões agressivas (NOGUEIRA et al., 2010; SAMPIERI et al., 2012).

Desta forma, é importante que sejam realizados mais estudos que investiguem a presença de CTRs e GCRs nessas lesões que possam fornecer informações adicionais no tocante as precisas indicações da utilização da terapia não cirúrgica em pacientes portadores de LCCG agressivas e não agressivas.

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVOS GERAIS

O objetivo desta pesquisa foi analisar a imunexpressão de CTRs e GCRs em uma série de casos de LCCGs agressivas e não agressivas, visando identificar se tal imunexpressão pode ser associada em alguns casos à resposta favorável ao tratamento clínico.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar e comparar por meio do estudo imuno-histoquímico a expressão de CTRs e GCRs em casos de LCCGs agressivas e não agressivas e verificar se o tratamento clínico pode constituir uma opção de tratamento com base na expressão desses receptores;
- Identificar os tipos celulares positivos para os CTRs e GCRs;
- Verificar se a imunexpressão dos CTRs e GCRs encontra-se associada em alguns casos à resposta favorável ao tratamento clínico com calcitonina *spray* intranasal ou triancinolona intralesional.

3. ARTIGO

IMUNOEXPRESSÃO DE RECEPTORES DE CALCITONINA E CORTICOSTEROIDES EM LESÕES CENTRAIS DE CÉLULAS GIGANTES DOS OSSOS MAXILARES

IMMUNOEXPRESSION OF CALCITONIN AND CORTICOSTEROIDS RECEPTORS IN CENTRAL GIANT CELL LESIONS OF THE JAWS

Mara Luana Batista Severo*, Adriano Rocha Germano**, Márcia Cristina da Costa Miguel*, Maria Luiza Diniz de Sousa Lopes*, Evelini Turatti***, Renato Luiz Maia Nogueira***, Roberta Barroso Cavalcante***, Éricka Janine Dantas da Silveira*.

*Programa de Pós-graduação em Patologia Oral, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal-RN, Brasil.

**Residência em Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal-RN, Brasil.

***Departamento de Odontologia, Universidade de Fortaleza, Fortaleza-CE, Brasil.

AUTOR PARA CORRESPONDÊNCIA

Éricka Janine Dantas da Silveira, Avenida Senador Salgado Filho, 1787, Lagoa Nova, CEP: 59056-000, Natal/RN, Brasil. Email: ericka_janine@yahoo.com.br Telefone: 55 84 3215-4138

RESUMO

O objetivo desse estudo foi analisar a imunoexpressão de receptores de calcitonina (CTRs) e glicocorticoides (GCRs) em lesões centrais de células gigantes (LCCGs) agressivas e não agressivas. Trata-se de um estudo imuno-histoquímico (técnica da imunoperoxidase) de 52 casos de LCCGs dos ossos maxilares, nos quais 12 pacientes portadores de LCCG foram tratados com triancinolona intralesional e um paciente com calcitonina *spray* intranasal. A mediana da imunomarcção foi comparada entre os tipos celulares e subtipo clínico da lesão. O teste de Mann-Whitney foi realizado para essas comparações. Dos 52 casos de LCCGs, 53.8% eram do gênero feminino, com uma média de idade de 25.69 anos. A mandíbula foi o sítio anatômico mais acometido. Trinta casos (57.7%) foram de LCCGs agressivas e 22 (42.3%) de não agressivas. A cirurgia foi o tratamento de escolha em 75% das LCCGs estudadas. Em 56.7% das LCCGs agressivas foi realizada cirurgia, enquanto 43.4% foram submetidas ao tratamento conservador. Dos submetidos ao tratamento conservador, a maioria (n = 8; 61.5%) respondeu bem ao tratamento. A expressão de CTR foi evidenciada em 67.3% da amostra e para o GCR em 96.15% dos casos. Não houve diferença estatisticamente significativa entre a expressão de CTRs e GCRs em células mononucleares e multinucleadas das LCCGs em relação à agressividade, em relação ao tratamento realizado para os casos de lesões agressivas e em relação à resposta ao tratamento conservador realizado nos casos de LCCGs agressivas ($p > 0.05$). Os resultados dessa pesquisa sugerem que a imunoexpressão dos CTRs e GCRs não influenciou na resposta ao tratamento clínico com calcitonina ou triancinolona na amostra estudada e exibiu uma expressão variada independente da agressividade da lesão.

Palavras-chaves: Lesão central de células gigantes; Corticosteroides; Calcitonina; Tratamento; Imuno-histoquímica.

ABSTRACT

The aim of this study was to analyze the immunoexpression of calcitonin (CTR) and glucocorticoid (GCR) receptors in aggressive and non-aggressive central giant cell lesions (CGCL). This is an immunohistochemistry study (immunoperoxidase technique) of 52 cases of CGCL of the jaws, in which 12 patients were treated with intralesional triamcinolone injections and one with calcitonin nasal spray. The mean of immunostaining was compared between the cell types and clinical subtype of the lesion. The correlations among means were analyzed by Mann-Whitney test. Of the 52 cases studied, 53.8% were females, with a mean of 25.69 years. Most lesions were located in the mandible. Thirty patients (57.7%) had aggressive lesions and 22 (42.3%) of the cases consisted of non-aggressive lesions. Surgery was the treatment of choice in 75% of the cases. In 56.7% of the aggressive CGCL surgery was performed, while 43.4% of patients were submitted to conservative treatment. Among cases submitted to conservative treatment, the majority (n = 8; 61.5%) responded well to treatment. CTR expression was observed in 67.3% and GCR in 96.15% of cases. There was no significant statistical difference between the expression of CTRs and GCRs in mononuclear and multinucleated CGCLs cells, regarding aggressiveness, treatment performed for aggressive lesions and the response to conservative treatment ($p>0.05$). The results of our research suggest that the immunoreactivity of CTRs and GCRs did not influence the response to clinical treatment with calcitonin or triamcinolone in the sample studied and it exhibited a varied expression regardless of the aggressiveness of the lesion.

Key-Words: Central giant cell lesions; Corticosteroids; Calcitonin; Treatment; Immunohistochemistry.

INTRODUÇÃO

A lesão central de células gigantes (LCCG) é uma lesão intra-óssea benigna de natureza incerta e comportamento clínico variável^{1,2}. Tal lesão é mais comum em mulheres com proporção de 1,3:1 mulher/ homem^{3,4} e pode ocorrer em todas as idades, mas a maioria dos casos é diagnosticada na segunda e terceira décadas de vida^{1,5,6}. A mandíbula é geralmente mais afetada do que a maxila, com uma taxa de incidência de mandíbula / maxila de 2:1^{1,7}.

Clinicamente, na maioria dos casos apresenta-se como um achado ocasional e assintomático, diagnosticado em exames radiográficos de rotina ou com outras finalidades. Porém, algumas vezes pode causar dor, parestesia, aumento de volume, mobilidade dentária e em raros casos pode causar obstrução nasal^{1,2,6,7}. A análise radiográfica, pode evidenciar desde pequenas lesões apicais a grandes radiolucências multiloculares e envolver grandes áreas dos ossos maxilares^{1,8}. A depender destas características clínicas e radiográficas, as LCCGs podem ser classificadas em agressivas e não agressivas⁹.

As características histopatológicas das LCCGs são bem definidas e facilmente reconhecidas, as quais incluem grande quantidade de células gigantes multinucleadas e células mesenquimais mononucleadas em um estroma de tecido conjuntivo fibroso^{2,10}.

A resposta ao tratamento das LCCGs é variável e muitas vezes imprevisível, já que as lesões de comportamento mais agressivo exibem tendência à recidiva, principalmente quando realizado tratamento cirúrgico mais conservador³. Por outro lado, a natureza incerta da lesão não justifica em alguns casos a realização de cirurgias mutiladoras, principalmente em pacientes mais jovens^{11,12}.

Nesse sentido, nos últimos anos alguns cirurgiões tem tratado pacientes portadores de LCCG agressivas à base de corticosteroides intralesionais, calcitonina nasal e interferon-alfa, com o objetivo de reduzir o tamanho dessas lesões e consequentemente realizarem remoções cirúrgicas menos mutiladoras. Porém, parte destas lesões não responde a estas modalidades de tratamento clínico. Desta forma, torna-se importante a realização de pesquisas que verifiquem se tais lesões exibem os receptores específicos para estas drogas, para que de fato essa terapia possa ser utilizada com maior frequência na prática clínica. Assim, este estudo teve como objetivo analisar a expressão imuno-histoquímica de receptores de calcitonina (CTR) e glicocorticoide (GCR), em uma série de casos de LCCG agressivas e não agressivas, comparando tal imunoexpressão em alguns casos de LCCG agressivas responsivas e não responsivas ao tratamento clínico.

MATERIAIS E MÉTODOS

Amostra

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Natal-RN, Brasil, com o parecer nº 1.092.596, datado em 29/05/2015 (ANEXO).

A população do estudo foi constituída de todos os casos de LCCG registrados e diagnosticados no serviço de Histopatologia da Disciplina de Patologia Oral, Departamento de Odontologia da UFRN, Natal-RN, de janeiro de 1990 a julho de 2015. Adicionalmente, foram utilizados alguns casos de LCCGs tratados e acompanhados no serviço de Cirurgia da Universidade de Fortaleza (UNIFOR), Fortaleza-CE, Brasil.

A amostra foi selecionada de forma intencional, por conveniência e compreendeu 52 casos de LCCGs dos ossos maxilares, nos quais foram classificadas em agressivas (n=30) e não agressivas (n=22), segundo os critérios de Chuong et al⁹. Em seguida, dividiu-se a amostra em grupos 1 (casos de LCCG não agressivas, n=22), 2 (casos de LCCG agressivas submetidos ao tratamento cirúrgico, n=17) e 3 (casos de LCCG agressivas submetidos ao tratamento clínico com triancinolona ou calcitonina, n=13).

Em todos os pacientes da amostra foi realizada análise dos níveis séricos de paratormônio, cálcio, fósforo e fosfatase alcalina para descartar o tumor marrom do hiperparatireoidismo, estando os valores encontrados dentro dos limites de normalidade.

A avaliação pós-tratamento do grupo 3 foi realizada através da análise das informações contidas nos prontuários dos pacientes, dos exames clínicos e das imagens radiográficas de acompanhamento e controle, que foi no mínimo de seis meses para cada caso. Foram adotados parâmetros clínicos e radiográficos para estabelecer a resposta terapêutica em positiva ou negativa para a utilização dos fármacos, baseada na metodologia de Nogueira et al¹³.

Método Imuno-Histoquímico

Todos os espécimes de LCCGs fixados em formol a 10% e emblocados em parafina, foram submetidos a cortes histológicos de 3µm de espessura, os quais foram estendidos em lâminas de vidro, previamente limpas e desengorduradas, preparadas com adesivo à base de 3-aminopropyltriethoxy-silano (*Sigma Chemical CO*, St Louis, MO, USA). Posteriormente, o material foi submetido a técnica da imunoperoxidase, utilizando o anticorpo primário anti-

receptor de calcitonina (clone SCC-1022, Dako, DK). Para a detecção do receptor de glicorticoide, foi utilizado o anticorpo policlonal anti-receptor de GC (Clone P-20, Santa Cruz Biotechnology, INC, USA).

Para as etapas de desparafinização, re-hidratação e recuperação antigênica os cortes foram submetidos ao *trilogy* (Cell Marque, CA, USA), em uma concentração de 1:100 em água destilada em pascal. Posteriormente, as amostras sofreram o bloqueio da peroxidase endógena com H₂O₂10Vol (15 minutos em temperatura ambiente) e após lavagem em água corrente, incubadas em proteína *block* (ThermoScientific, Runcorn, UK) por 5 minutos em temperatura ambiente, a qual bloqueia as ligações inespecíficas. Em seguida, foram realizadas duas lavagens em tris-hidroximetil-aminometano (TRIS, Sigma Chemical, St Louis, MO, USA) (pH 7,4) com duas trocas de 5 minutos para então haver a incubação dos anticorpos primários anti-CTR (1:500, por 60 minutos) e anti-GR (1:400, por 60 minutos). Posteriormente, as amostras foram incubadas no sistema *HI DEF* (HRP, Polymer System) de detecção (15 minutos cada reagente), sendo o primeiro reagente o amplificador e o segundo, o polímero HRP, intercaladas por lavagens em TRIS. Após esta incubação, foi realizada a revelação com diaminobenzidina (DAB, Sigma Chemical, St Louis, MO, USA) em câmara escura, passando por água destilada, contra coloração com hematoxilina de Mayer (1 minuto), lavagem em água corrente (5 minutos), água destilada com duas trocas (5 minutos). O processo foi finalizado com desidratação, diafanização e montagem da lâmina.

Como controle positivo foi utilizado tecido normal do fígado. Como controle negativo não foi realizada a incubação com o anticorpo primário, sendo este substituído por albumina à 1%.

Análise das células imunomarcadas

Foi realizado um estudo cego no momento da contagem das células imunomarcadas em relação à classificação clínica das lesões (agressivas e não agressivas) e em relação à resposta ao tratamento clínico.

Para a análise da imunomarcção, as lâminas foram fotografadas (*Pannoramic MIDI*, 1.15 SPI, 3D HISTECH®, Budapest, Hungary) em 10 diferentes campos e então, com o auxílio do programa de visualização *Image J* (*National Institute of Mental Health, Bethesda, Maryland, USA*) foram quantificadas por um único examinador devidamente calibrado. Primeiro as células positivas para CTRs e GCR sem até 1000 células mononucleares e depois

em células multinucleadas, no aumento de 400x. As células endoteliais e células inflamatórias não foram contabilizadas.

O índice de contagem foi expresso como a porcentagem de células positivas por coloração nuclear e/ou citoplasmática tanto para o CTR quanto para o GCR em cada amostra pelo cálculo do índice de marcação LI (de *labelling index*)¹⁴ segundo a fórmula: $LI (\%) = (\text{número de cél. Imunopositivas})/(\text{número total de cél. contadas}) \times 100$.

Análise estatística

Os dados clínicos e imuno-histoquímicos foram tabulados em tabelas do programa Microsoft Excel® 2007 e posteriormente exportados para o programa estatístico SPSS® versão 20.0, no qual foram submetidos a uma análise descritiva e testes estatísticos.

Para comparar a diferença na expressão de CTRs e GCRs em células mononucleares e multinucleadas das LCCGs em relação à agressividade, tratamento realizado para os casos de lesões agressivas e resposta ao tratamento conservador realizado em casos agressivos foi realizado o teste de Mann-Whitney. Os resultados foram considerados significativos quando $p \leq 0,05$.

RESULTADOS

O perfil clínico dos 52 casos de LCCGs estudados está detalhado na Tabela 1. Trinta casos (57.7%) foram classificados como LCCGs agressivas, enquanto 22 (42.3%) representaram LCCGs não agressivas. A média de idade da amostra total, em anos, foi de 25.69, a qual variou de 6 a 78 anos. A média de idade dos indivíduos com LCCGs agressivas foi menor que naqueles com lesões não agressivas. Houve predominância do gênero feminino (53.8%) na amostra total e nos casos de LCCGs não agressivas (59.1%), enquanto as lesões agressivas não mostraram predileção por gênero. A mandíbula foi o sítio mais acometido em ambos os grupos.

A cirurgia foi o tratamento de escolha em 75% das LCCGs estudadas, incluindo todas as LCCGs não agressivas. Em 56.7% das LCCGs agressivas foi realizada cirurgia, enquanto 43.4% foram submetidas ao tratamento conservador com injeções de triancinolona intralesional ou calcitonina *spray* intranasal. Dos 13 casos submetidos ao tratamento conservador, somente um foi tratado com calcitonina. A maioria dos casos que recebeu

terapia conservadora respondeu bem ao tratamento ($n = 8$; 61.5%), enquanto 5 pacientes (38.5%) não apresentaram boa resposta, incluindo o único caso tratado com calcitonina *spray* intranasal.

Imunoexpressão de CTR

A imunoexpressão de CTR foi observada predominantemente no núcleo e/ou citoplasma, tanto para células mononucleares quanto para células gigantes multinucleadas de 35 (67.3%) das 52 LCCGs analisadas. A Tabela 2 demonstra as informações referentes à avaliação da imunoexpressão de CTR.

A análise comparativa da imunoexpressão de CTR entre LCCGs não agressivas e agressivas, foi observada ausência de diferença estatisticamente significativa tanto nas células mononucleares ($p = 0.178$), quanto nas células gigantes multinucleadas ($p = 0.858$).

No que diz respeito ao tratamento realizado nas LCCGs agressivas, a mediana da percentagem de células positivas para CTR em células mononucleares e multinucleadas foi maior no grupo cujo tratamento conservador foi adotado, que no grupo tratado cirurgicamente (Figura 2). O teste de Mann-Whitney revelou ausência de diferença estatisticamente significativa entre estes grupos, respectivamente ($p = 0.436$; $p = 0.141$).

Nas LCCGs agressivas submetidas ao tratamento conservador, a percentagem da imunomarcção de CTR em células mononucleares exibiu medianas semelhantes entre o grupo com boa resposta e o não responsivo ao tratamento clínico, independente do tipo de tratamento conservador realizado, 22.36 e 30.5, respectivamente ($p = 0.883$). A análise da imunoexpressão de CTR em células multinucleadas de LCCGs agressivas submetidas ao tratamento conservador revelou uma maior mediana de percentagem de células positivas no grupo que obteve boa resposta (81.89), que no grupo não responsivo ao tratamento (46.88), no entanto esta diferença não foi estatisticamente significativa ($p = 0.943$). O único caso que recebeu calcitonina *spray* intranasal, o qual não foi responsivo ao referido tratamento, exibiu baixa marcação para este receptor.

Imunoexpressão de GCR

A marcação de GCR foi observada principalmente no núcleo de células mononucleares e citoplasma das células gigantes multinucleadas de 50 (96.15%) das 52 LCCGs analisadas. As informações da análise da imunoexpressão de GCR nos casos estudados estão descritas na Tabela 3.

A análise comparativa das medianas da percentagem de imunomarcação de GCR entre LCCGs não agressivas e agressivas demonstrou ausência de diferenças significativas tanto nas células mononucleares ($p = 0.704$), quanto nas células multinucleadas ($p = 0.132$) (Figura 3).

Com relação à expressão de GCR nos casos de LCCGs agressivas de acordo com o tratamento realizado, observou-se que para as células mononucleares houve uma maior percentagem de células positivas (mediana = 43.8) no grupo de tratamento conservador do que no tratado com cirurgia (mediana = 24). A percentagem de marcação de GCR em células multinucleadas exibiu mediana de 91.73 nas lesões agressivas tratadas clinicamente, enquanto para as lesões tratadas com cirurgia a mediana foi 96.55. Não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p = 0.391$; $p = 0.720$).

A análise da expressão de GCR em LCCGs agressivas que foram submetidas ao tratamento conservador com relação à resposta ao tratamento revelou medianas de percentagem de células positivas similares tanto nas células mononucleares (48.73 e 43.4 para o grupo não responsivo e responsivo, respectivamente), quanto nas células multinucleadas (91.73 e 91.9 para o grupo não responsivo e responsivo, respectivamente) (Figura 4). Ao comparar os grupos, observou-se ausência de diferenças estatisticamente significativas ($p = 0.661$; $p = 0.942$). O único caso que recebeu calcitonina *spray* intranasal, o qual não foi responsivo ao referido tratamento, exibiu baixa marcação para o GCR.

DISCUSSÃO

A LCCG é uma enfermidade relativamente rara, que corresponde cerca de 7% de todas as lesões intra-ósseas dos ossos maxilares⁶. Trata-se de uma lesão de natureza desconhecida e comportamento clínico variável, que quando se comporta de forma mais agressiva pode ser de difícil tratamento e exibir elevada taxa de recidiva^{1,2}.

Clinicamente, tende a acometer principalmente adultos jovens, mulheres e com certa predileção pela região anterior da mandíbula^{1,3,4,7,10,15}. A amostra analisada no presente estudo foi constituída por pacientes de ampla faixa etária, a qual variou de 6 a 78 anos, com média de idade em torno da segunda década de vida (25.69 anos). Foi observado que a média de idade dos indivíduos com LCCGs agressivas foi menor do que nas LCCG não agressivas, corroborando com os resultados encontrados no estudo de Martins et al¹⁶, no qual as LCCGs não agressivas apresentaram uma média de idade maior (31 anos) que as lesões classificadas como agressivas (22.8 anos). No presente estudo, o gênero feminino foi o mais acometido e a região anatômica mais frequente foi a mandíbula (57.7%) em ambos os grupos (agressivas e

não agressivas). Estes achados clínicos corroboram com os resultados encontrados na literatura^{10,15,16,17}.

O manejo dos pacientes portadores de LCCGs dos ossos maxilares é um problema, principalmente quando ocorre em pacientes mais jovens e quando exhibe comportamento biológico mais agressivo, pois às vezes é necessário realizar procedimentos cirúrgicos mais invasivos que podem acarretar comprometimento funcional e estético. Nos últimos anos, novas modalidades terapêuticas alternativas estão sendo instituídas, objetivando reduzir ao máximo os transtornos causados pelos procedimentos cirúrgicos mais invasivos e reduzir taxas de recidivas quando a curetagem é realizada⁷.

Entre as novas estratégias terapêuticas utilizadas, destaca-se os bons resultados obtidos com a utilização de corticosteroides intralesionais^{7,18,19,20} e o uso de calcitonina *spray* intranasal^{12,21,22,23,24}. Porém, é relatado na literatura que os resultados de tais terapias variam sucesso através de resolução completa da lesão ao de insucesso por meio do aumento da mesma¹⁶.

Na presente pesquisa, a cirurgia foi a modalidade terapêutica de escolha para 75% das LCCGs, incluindo todas as LCCGs não agressivas, enquanto 43.4% das LCCGs agressivas foram submetidas ao tratamento conservador com triancinolona ou calcitonina. No estudo de Martins et al¹⁶, todos os casos de LCCGs estudados, independente da classificação, foram tratados de forma cirúrgica. Porém, três casos de LCCGs agressivas recorreram e posteriormente foram tratados com abordagens farmacológicas adjuvantes, calcitonina *spray* intranasal (n=2) e no outro caso foi realizada associação de corticosteroide intralesional a calcitonina *spray* intranasal.

Dos treze casos que foram submetidos ao tratamento conservador na amostra estudada, a maioria (n = 8; 61.5%) respondeu bem ao tratamento. Estes achados são semelhantes aos de Nogueira et al¹⁸, Ferreti et al¹⁹ e Dolanmaz et al⁷, que trataram de forma conservadora com triancinolona os casos de LCCGs diagnosticados em seus estudos e obtiveram bons resultados. Estes autores concluíram que injeções intralesionais de corticosteroide constituem uma boa alternativa para o tratamento conservador de LCCG, baseado no fato de que esse tratamento pode resultar em redução da lesão ou até mesmo resolução completa do caso.

As ações de tais medicamentos são mediadas, pelo menos em parte, pela presença de CTRs e GCR¹⁴. Dessa forma, acredita-se que para que estes tratamentos sejam mais eficazes,

as células componentes da lesão devem expressar esses receptores, pois a ausência dos mesmos pode ser responsável pela resposta desfavorável. De fato, Vered et al¹⁰ sugeriram que a identificação imuno-histoquímica dos CTRs e GCRs podem auxiliar o clínico na decisão da estratégia terapêutica mais adequada.

Neste contexto, no presente estudo, foi analisada a imunoexpressão de CTRs e GCR sem três grupos de LCCGs dos ossos maxilares. A contagem das células imunomarcadas foi realizada considerando cada tipo celular da lesão de forma independente. Essa contagem diferencial é importante porque vários estudos apontam as células mononucleares tipo fibroblastos *like* como as responsáveis pela proliferação da lesão^{25,26,27}.

De acordo com os presentes resultados, identificou-se que a imunoexpressão de CTR ocorreu predominantemente no núcleo e/ou citoplasma de células mononucleares e de células gigantes multinucleadas em 67.3% dos casos das LCCGs analisadas. Os nossos achados corroboram com os resultados de Nogueira et al¹³, que observaram em ambos os tipos celulares, uma positividade nuclear e/ou citoplasmática para CTR em 100% dos casos das LCCGs estudados. Diferente dos achados de Tóbon-Arroyabe et al¹⁴ que observaram uma marcação para o CTR predominantemente nuclear para células mononucleares e citoplasmática para células gigantes multinucleadas, enquanto, Vered et al¹⁰ e Martins et al¹⁶ observaram uma imunomarcação predominantemente citoplasmática em ambos os tipos celulares. Baseados na hipótese de que células gigantes exibem características de osteoclastos, o emprego do hormônio calcitonina ganhou espaço no tratamento dessas lesões^{12,21,22,23,24,28,29}.

Em relação à análise comparativa das medianas da percentagem de imunomarcação de CTRs entre LCCGs não agressivas e agressivas, foi observado que a mediana de células mononucleares positivas para CTR nos casos de LCCGs não agressivas foi maior que nas lesões agressivas. Diferentemente, da expressão de CTR em células multinucleadas de LCCGs não agressivas que apresentou mediana menor do que nos casos de lesões agressivas. Apesar desses resultados, foi observada ausência de diferença estatisticamente significativa tanto nas células mononucleares, quanto nas células gigantes multinucleadas ($p > 0.05$). Dessa forma, com base na expressão dos CTRs, sugere-se que as LCCGs não agressivas podem também ter como escolha o tratamento não cirúrgico a base de calcitonina. Tóbon-Arroyabe et al¹⁴, Nogueira et al¹³, Martins et al¹⁶, da mesma forma, não encontraram diferença estatística significativa entre a expressão de CTR e as variantes agressivas e não agressivas de LCCG. Contudo, Martins et al¹⁶ observaram um maior percentual de células positivas, tanto

mononucleares quanto multinucleadas para o CTR no grupo de LCCGs não agressivas, respectivamente 34.12%, 65.74%.

Na amostra da presente pesquisa, todos os tipos celulares marcaram amplamente para o CTR, reforçando a hipótese que parte dessas células constituiu osteoclastos, os quais são amplamente marcados para esse receptor. Esse fato foi comprovado também por outros estudos, os quais encontraram que células gigantes expressam marcadores para essas células, como calcitonina^{10,14,21}, fosfatase ácido resistente ao tartrato (TRAP)^{27,30} e vitronectina³⁰.

Nogueira et al¹³ observaram maior imunoexpressão de CTR nos casos de LCCGs agressivas, porém não houve diferença estatística significativa entre a expressão de CTR e os grupos de LCCGs agressivos e não agressivos ($p=0.479$; $p=0.269$). Apesar desse resultado, eles observaram que a imunoexpressão do CTR foi maior em células mononucleares em casos de LCCGs com boa resposta para tratamento com triancinolona, quando comparado com lesões de resposta moderada ou negativa ao mesmo tratamento. Kurokawa et al³¹ por meio de estudos experimentais mostraram que o uso de corticosteroides pode modular a regulação da expressão do gene dos CTRs, gerando como consequência, o aumento da expressão dos CTRs. Os autores também sugeriram que os casos de LCCGs não responsivos ao tratamento inicial com triancinolona podem ter a calcitonina como segunda escolha de tratamento não cirúrgico.

Na presente pesquisa a expressão de GCR, foi visualizada tanto no núcleo como no citoplasma de células mononucleares e no citoplasma em células gigantes multinucleadas em mais de 90% dos casos de LCCGs analisados. Estes achados estão de acordo com os encontrados no estudo de Tóbon-Arroyabe et al¹⁴ e diferente dos resultados encontrados por Vered et al¹⁰, nos quais observaram uma imunomarcagem predominantemente citoplasmática para o GCR, em ambos os tipos celulares.

Os glicocorticoides (GC) atuam atravessando a membrana lipoproteica das células alvo, ligando-se a GCRs citosólicos e em seguida migram para o interior do núcleo onde exercem a sua ação. Uma vez no núcleo, interagem com o ácido desoxirribonucleico (DNA) (ação genômica- mecanismo de ação tipo 1), ou com outras proteínas implicadas no processo de transcrição (ação não genômica, específica ou inespecífica-mecanismo de ação tipo 2). A ligação GC-GCR, acarreta na transcrição de vários genes, dentre eles, os que codificam lipocortina, vasocortina, endonuclease, ribonucleases, endopeptidases, somatostatina, fator inibidor de migração, receptores para hormônios e citocinas³². Dessa forma, sugerimos que a localização dos GCRs possa ter uma relação com a ação e efetividade da droga no tratamento

de pacientes portadores de LCCGs que foram tratados com corticosteroides, fato esse que pode justificar na nossa pesquisa a ausência de resposta ao tratamento com triancinolona em alguns casos que exibiram marcação citoplasmática para o receptor de glicocorticoide.

A análise comparativa das medianas da percentagem de imunomarcação de GCR entre LCCGs não agressivas e agressivas demonstrou ausência de diferenças significativas tanto nas células mononucleares quanto nas células multinucleadas. Da mesma forma, Nogueira et al¹³ e Martins et al¹⁶ não encontraram diferença estatisticamente significativa entre a imunoexpressão do GCR em lesões agressivas e não agressivas e os tipos celulares (mononucleares e multinucleadas).

No estudo de Vered et al¹⁰, foi encontrada marcação para GCRs em todas as lesões de forma heterogênea. Somente 23 casos (56%) foram positivos para CTRs. As células gigantes foram positivas para o CTR, enquanto as células da linhagem macrófaga (mononucleares) foram positivas para GCR e negativa para CTR. A expressão de CTR foi significativamente mais elevada em lesões não agressivas. Os autores sugeriram que os constituintes celulares das LCCGs sofrem transformação no fenótipo em relação à expressão dos CTRs e GCRs, acarretando em alterações no comportamento biológico e por isso são consideradas lesões dinâmicas, onde o tratamento é ajustado conforme a evolução da lesão. Para os autores, isso explica o fato destas lesões responderem de forma diferente a cada agente, já que geralmente lesões fortemente positivas para GCRs, não expressam CTRs.

Nos casos analisados na presente pesquisa, o GCR esteve presente de forma semelhante em LCCG agressivas e não agressivas, dessa forma, sugere-se que os glicocorticoides podem ser uma opção de tratamento para ambos os tipos clínicos de lesões com base na expressão do seu receptor.

Em relação à expressão de GCR nos casos de LCCGs agressivas de acordo com o tratamento realizado, no estudo em questão, observou-se que as células mononucleares exibiram maior percentagem de células positivas no grupo de tratamento conservador, quando comparado com o grupo tratado com cirurgia. Por sua vez, a percentagem de marcação de GCR em células multinucleadas foi menor nas lesões agressivas tratadas clinicamente, quando comparado com o grupo tratado com cirurgia, no entanto não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos.

Quando comparada a expressão de GCR em LCCGs agressivas que foram submetidas ao tratamento conservador em relação à resposta ao tratamento clínico (responsivo e não

responsivo), evidenciou-se que as medianas de células positivas foram similares tanto nas células mononucleares quanto nas células multinucleadas, porém ao comparar os grupos, observou-se ausência de diferenças estatisticamente significativas.

Em seu estudo, Nogueira et al¹³ analisaram a imunoexpressão de GCRs e CTRs, em 18 casos de LCCG (9 agressivas e 9 não agressivas), antes e após o tratamento com esteroides intralesionais e corroborando com os resultados desta pesquisa, os autores não detectaram diferenças estatisticamente significativas na expressão dos CTRs e GCRs entre as LCCG agressivas e não agressivas e entre os pacientes com boa resposta ao tratamento. No entanto, a expressão do GCR nas células multinucleadas foi a mais alta nos pacientes com boa resposta. Estes autores sugerem que a expressão imuno-histoquímica dos GCRs pode fornecer uma ferramenta para seleção da estratégia terapêutica no tratamento de LCCGs.

Martins et al. (2015) reforçaram que enquanto as células mononucleares são responsáveis pela proliferação da lesão como mencionado, as células gigantes são associadas a reabsorção óssea e a expressão dos CTRs e GCRs, em ambos tipos celulares, esse fato demonstra que os glicocorticoides e calcitonina exercem diferentes funções nessas células.

Os achados do presente estudo evidenciaram que a imunoexpressão dos CTRs e GCRs não exerceu influência na resposta ao tratamento clínico nos casos estudados, porém tais lesões exibem positividade variada para estes receptores e dessa forma, reforça que a terapia clínica pode ser efetiva tanto nas lesões agressivas, quanto nas não agressivas. Assim, sugere-se que alguns fatores, como a real etiopatogênese e natureza das LCCGs, ainda precisam ser melhores esclarecidas. O fato das LCCGs dos ossos maxilares representarem, conforme Edwards³³, um grupo heterogêneo de lesões, pode estar relacionado à resposta variada ao tratamento clínico.

CONFLITO DE INTERESSE: Nenhum

AGRADECIMENTOS: Agradecemos a equipe de Residência em Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial da UFRN, aos Patologistas e ao Cirurgião Renato Nogueira pelo acompanhamento rigoroso aos pacientes que receberam o tratamento clínico, e informações fornecidas em relação ao tratamento.

REFERÊNCIAS

1. De Lange J, Van den Akker HP. Clinical and radiological features of central giant-cell lesions of the jaw. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 99:464, 2005
2. Aghbali A, Sina M, Vahid Pakdel SM, Emamverdizadeh P, Kouhsoltani M, Mahmoudi SM, Janani M. Correlation of histopathologic features with demographic, gross and radiographic findings in giant cell granulomas of the jaws. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects* 7:225,2013
3. De Lange J, Van Den Akker HP, van den Berg H. Central giant cell granuloma of the jaw: a review of the literature with emphasis on therapy options. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 104:603, 2007
4. Tosco P, Tanteri G, Iaquina C, Fasolis M, Roccia F, Berrone S, Garzino-Demo P. Surgical treatment and reconstruction for central giant cell granuloma of the jaws: a review of 18 cases. *J Craniomaxillofac Surg* 37:380, 2009
5. Kruse-Lösler B, Diallo R, Gaertner C, Mischke KL, Joos U, Kleinheinz J. Central giant cell granuloma of the jaws: a clinical, radiologic, and histopathologic study of 26 cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 101:346, 2006
6. Jamshidi S, Shojaei S, Roshanaei G, Modabbernia S, Bakhtiary E. Jaw Intraosseous Lesions Biopsied Extracted From 1998 to 2010 in an Iranian Population. *Iran Red Crescent Med J* 17:20374,2015
7. Dolanmaz D, Esen A, Mihmanlı A, Işık K. Management of central giant cell granuloma of the jaws with intralesional steroid injection and review of the literature. *Oral Maxillofac Surg*, 2015 [Epub ahead of print]
8. Osterne RL, Araújo PM, de Souza-Carvalho AC, Cavalcante RB, Sant'Ana E, Nogueira RL. Intralesional corticosteroid injections in the treatment of central giant cell lesions of the jaws: a meta-analytic study. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 18:226, 2013
9. Chuong R, Kaban LB, Kozakewich H, Perez-Atayde A. Central giant cell lesions of the jaws: a clinicopathologic study. *J Oral Maxillofac Surg* 44:708, 1986
10. Vered M, Buchner A, Dayan D. Immunohistochemical expression of glucocorticoid and calcitonin receptors as a tool for selecting therapeutic approach in central giant cell granuloma of the jawbones. *Int J Oral Maxillofac Surg* 35:756, 2006
11. Adornato MC, Patcoff KA. Intralesional corticosteroid injection for treatment of central giant-cell granuloma. *J Am Dent Assoc* 132:186, 2001

12. Pogrel MA. Calcitonin therapy for central giant cell granuloma. *J Oral Maxillofac Surg* 61:649, 2003
13. Nogueira RL, Faria MH, Osterne RL, Cavalcante RB, Ribeiro RA, Rabenhorst SH. Glucocorticoid and calcitonin receptor expression in central giant cell lesions: implications for therapy. *Int J Oral Maxillofac Surg* 41:994, 2012
14. Tobón-Arroyave SI, Franco-González LM, Isaza-Guzmán DM, Floréz-Moreno GA, Bravo-Vásquez T, Castañeda-Peláez DA, Vieco-Durán B. Immunohistochemical expression of RANK, GR α and CTR in central giant cell granuloma of the jaws. *Oral Oncol* 41:480, 2005
15. Stavropoulos F, Katz J. Central giant cell granulomas: a systematic review of the radiographic characteristics with the addition of 20 new cases. *Dentomaxillofac Radiol* 31:213, 2002
16. Martins AF, Souza PO, Rege IC, Morais MO, Mendonça EF. Glucocorticoids, calcitonin, and osteocalcin cannot differentiate between aggressive and nonaggressive central giant cell lesions of the jaws. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 120:386, 2015
17. Reddy V, Saxena S, Aggarwal P, Sharma P, Reddy M. Incidence of central giant cell granuloma of the jaws with clinical and histological confirmation: an archival study in Northern India. *Br J Oral Maxillofac Surg* 50:668, 2012
18. Nogueira RL, Teixeira RC, Cavalcante RB, Ribeiro RA, Rabenhorst SH. Intralesional injection of triamcinolone hexacetonide as an alternative treatment for central giant-cell granuloma in 21 cases. *Int J Oral Maxillofac Surg* 39:1204, 2010
19. Ferretti C, Muthray E. Management of central giant cell granuloma of mandible using intralesional corticosteroids: case report and review of literature. *J Oral Maxillofac Surg* 69:2824, 2011
20. Da Silva Sampieri MB, Yaedú RY, Santos PS, Gonçalves ES, Santa'ana E, Consolaro A, Cardoso LB. Central giant cell granuloma: treatment with calcitonin, triamcinolone acetonide, and a cystic finding 3 years and 6 months after the primary treatment. *Oral Maxillofac Surg* 17:229, 2013
21. Pogrel MA, Regezi JA, Harris ST, Goldring SR. Calcitonin treatment for central giant cell granulomas of the mandible: report of two cases. *J Oral Maxillofac Surg* 57:848, 1999
22. Vered M, Shohat I, Buchner A, Dayan D, Taicher S. Calcitonin nasal spray for treatment of central giant cell granuloma: clinical, radiological, and histological

- findings and immunohistochemical expression of calcitonin and glucocorticoid receptors. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 104:226,2007
23. Borges HO, Machado RA, Vidor MM, Beltrão RG, Heitz C, Filho MS. Calcitonin: a non-invasive giant cells therapy. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 72:959,2008
 24. Allon DM, Anavi Y, Calderon S. Central giant cell lesion of the jaw: nonsurgical treatment with calcitonin nasal spray. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 107:811, 2009
 25. Tiffée JC, Aufdemorte TB. Markers for macrophage and osteoclast lineages in giant cell lesions of the oral cavity. *J Oral Maxillofac Surg* 55:1108,1997
 26. Kauzman A, Li SQ, Bradley G, Bell RS, Wunder JS, Kandel R. Central giant cell granuloma of the jaws: assessment of cell cycle proteins. *J Oral Pathol Med* 33:170,2004
 27. Torabinia N, Razavi SM, Shokrolahi Z. A comparative immunohistochemical evaluation of CD68 and TRAP protein expression in central and peripheral giant cell granulomas of the jaws. *J Oral Pathol Med* 40:334, 2011
 28. Harris M. Central giant cell granulomas of the jaws regress with calcitonin therapy. *Br J Oral Maxillofac Surg* 31:89, 1993
 29. De Lange J, Rosenberg AJ, van den Akker HP, Koole R, Wirts JJ, van den Berg H. Treatment of central giant cell granuloma of the jaw with calcitonin. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 28:372, 1999
 30. Itonaga I, Hussein I, Kudo O, Sabokbar A, Watt-Smith S, Ferguson D, Athanasou NA. Cellular mechanisms of osteoclast formation and lacunar resorption in giant cell granuloma of the jaw. *J Oral Pathol Med* 32:224, 2003
 31. kurokawaM, Michelangeli VP, Findlay DM. induction of calcitonin receptor expression by glucocorticoids in t47d human breast cancer cells. *J Endocrinol* 130:321, 1991
 32. Barnes PJ. Mechanisms and resistance in glucocorticoid control of inflammation. *J Steroid Biochem Mol Biol* 120:76, 2010
 33. Edwards PC. Insight into the pathogenesis and nature of Central giant cell lesions of the jaws. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 20:196, 2015

TABELAS

Tabela 1. Perfil demográfico e clínico dos casos de lesões centrais de células gigantes de acordo com a agressividade. Natal, RN-2016.

	<i>LCCG</i> (<i>n</i> = 52)	<i>Não agressiva</i> (<i>n</i> = 22)	<i>Agressiva</i> (<i>n</i> = 30)
Idade em anos			
(média± DP)	25.69 ± 16.54	30.27 ± 20.462	22.33 ± 12.26
Gênero			
Feminino	28 (53.8%)	13 (59.1%)	15 (50%)
Masculino	24 (46.2%)	9 (40.9%)	15 (50%)
Localização			
Mandíbula	30 (57.7%)	13 (43.3%)	17 (56.7%)
Maxila	22 (42.3%)	9 (40.9%)	13 (59.1%)
Tratamento			
Cirúrgico	39 (75%)	22 (100%)	17 (56.7%)
Conservador	13 (25%)	0 (0%)	13 (43.3%)

FONTE: Programa de Pós-graduação em Patologia Oral – UFRN

Tabela 2. Tamanho da amostra, mediana, quartis 25 e 75, média dos postos, soma dos postos, estatística U e significância estatística (*p*) para a expressão de CTR em células mononucleares e multinucleadas das LCCGs em relação à agressividade, tratamento realizado para os casos de lesões agressivas e resposta ao tratamento conservador realizado em casos agressivos. Natal, RN-2016.

Variáveis		<i>n</i>	Mediana	Q ₂₅ -Q ₇₅	Média dos postos	Soma dos postos	U	<i>p</i>
Tipo celular	Agressividade							
Mononuclear	Não agressiva	22	47.8	10.5-76	29.75	654.5	258.5	0.178
	Agressiva	30	16.3	0-70.5	24.12	723.5		
Multinucleada	Não-agressiva	22	51.57	3.75-80.11	26.93	592.5	320.5	0.858
	Agressiva	30	60.25	0-84.48	26.18	785.5		
Tipo celular	Tratamento							
Mononuclear	Cirúrgico	17	0	0-72.9	14.44	245.5	92.5	0.436
	Conservador	13	27.73	54-60.2	16.88	219.5		
Multinucleada	Cirúrgico	17	0	0-76.9	13.5	229.5	76.5	0.141
	Conservador	13	72.91	23.44-87.3	18.12	235.5		
Tipo celular	Resposta							
Mononuclear	Não responsivo	5	30.5	0-65.72	6.8	34	19	0.883
	Responsivo	8	22.36	10.82-68.8	7.13	57		
Multinucleada	Não responsivo	5	46.88	0-79.75	5	25	10	0.943
	Responsivo	8	81.89	59.12-97	8.25	66		

Teste não-paramétrico de Mann-Whitney

FONTE: Programa de Pós-graduação em Patologia Oral - UFRN

Tabela 3. Tamanho da amostra, mediana, quartis 25 e 75, média dos postos, soma dos postos, estatística U e significância estatística (*p*) para a expressão de GCR em células mononucleares e multinucleadas das LCCGs em relação à agressividade, tratamento realizado para os casos de lesões agressivas e resposta ao tratamento conservador realizado em casos agressivos. Natal, RN-2016.

Variáveis		<i>n</i>	Mediana	Q ₂₅ -Q ₇₅	Média dos postos	Soma dos postos	U	<i>p</i>
Tipo celular	Agressividade							
Mononuclear	Não agressiva	22	63.75	16.6-79.3	27.43	603.5	309.5	0.704
	Agressiva	30	39.65	20.87-80.03	25.82	774.5		
Multinucleada	Não agressiva	22	89.68	52.9-96.07	22.82	502	249	0.132
	Agressiva	30	93.26	80.82-99.63	29.20	876		
Tipo celular	Tratamento							
Mononuclear	Cirúrgico	17	24	16.2-82.55	14.29	243	90	0.391
	Conservador	13	43.8	34.75-77.59	17.08	222		
Multinucleada	Cirúrgico	17	96.55	79.04-100	16	272	102	0.720
	Conservador	13	91.73	82.41-99.08	14.85	193		
Tipo celular	Resposta							
Mononuclear	Não responsivo	5	48.73	24.25-95.33	7.6	38	17	0.661
	Responsivo	8	43.4	35.7-74.07	6.63	53		
Multinucleada	Não responsivo	5	91.73	83.78-97.29	7.1	35.5	19.5	0.942
	Responsivo	8	91.9	81-99.29	6.94	55.5		

Teste não-paramétrico de Mann-Whitney

FONTE: Programa de Pós-graduação em Patologia Oral - UFRN

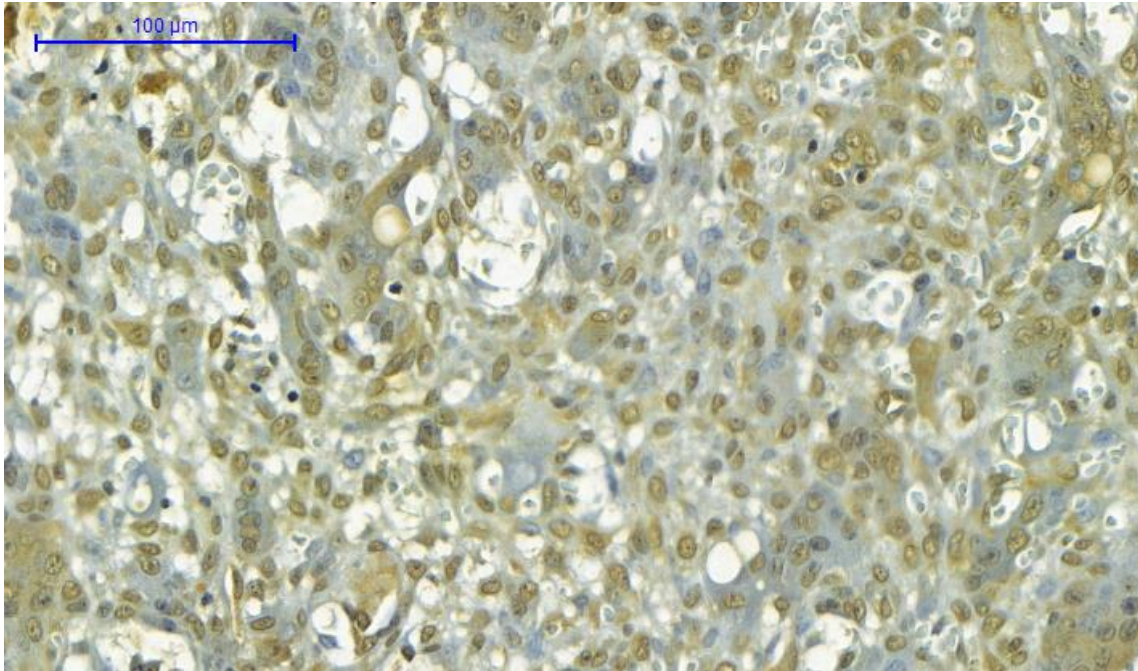
FIGURAS

FIGURA 1. Predomínio da imunoexpressão de CTR em células mononucleares em caso de LCCG agressiva.

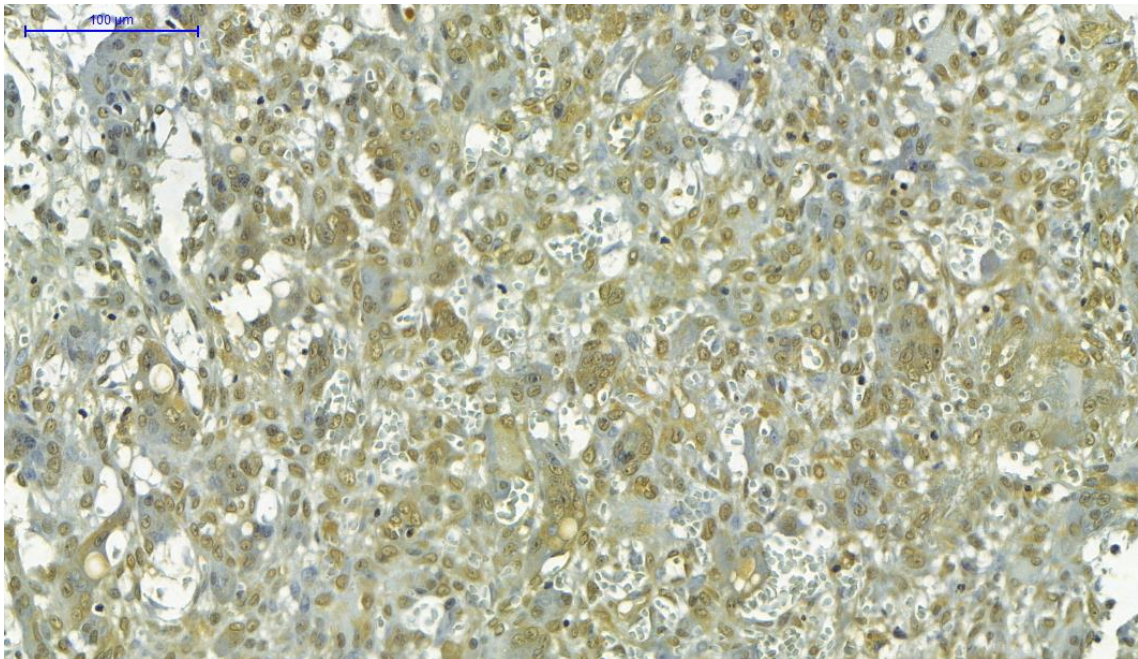


FIGURA 2. Padrão de expressão semelhante de CTR em células mononucleares e gigantes multinucleados em paciente submetido ao tratamento conservador.

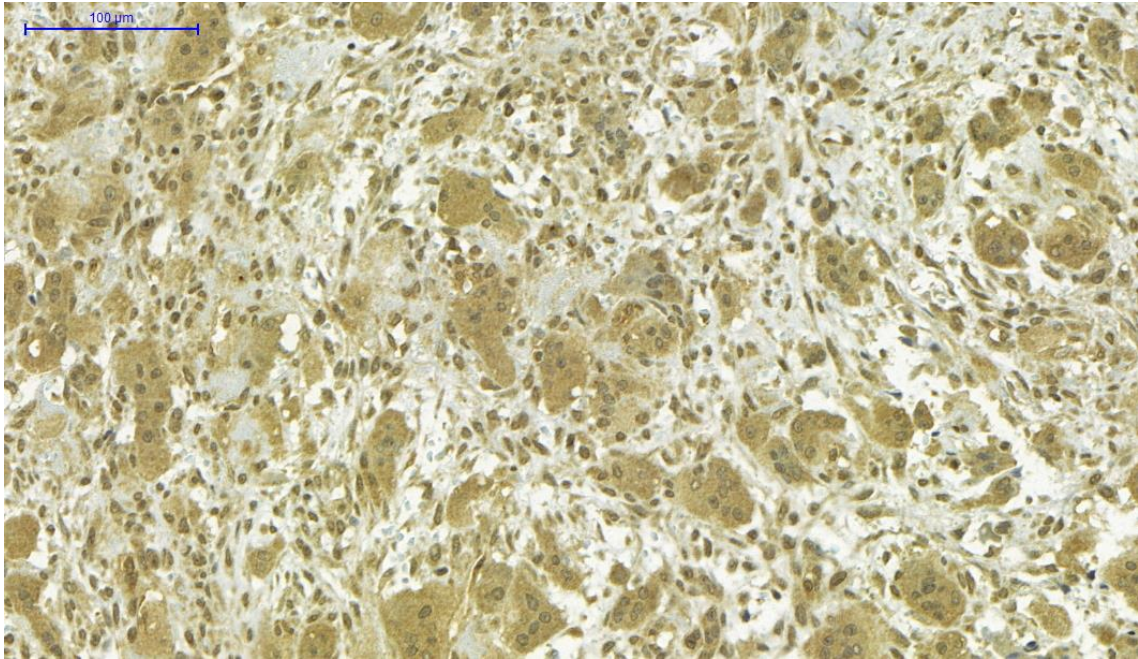


FIGURA 3. Imunoexpressão de GCR em LCCG não agressiva com padrão de marcação semelhante em células mononucleares e gigantes multinucleadas.

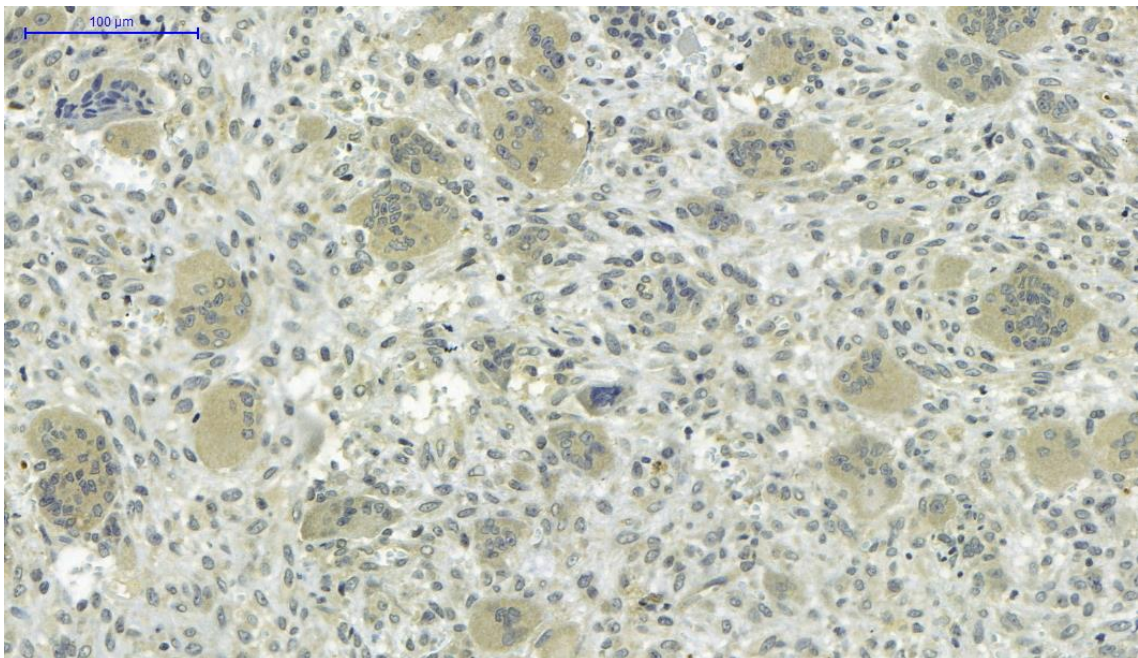


FIGURA 4. Imunoexpressão de GCR em células mononucleares de paciente com de LCCG não responsiva ao tratamento clínico com triancinolona intralesional.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base em nossos resultados e reforçados pelos relatos da literatura, sugere-se, com base na variada expressão dos receptores GCRs e CTRs que a terapia clínica pode constituir uma modalidade terapêutica tanto para LCCGs agressivas como para não agressivas, especialmente nos casos onde as lesões exibem grandes dimensões, para evitar tratamentos cirúrgicos mutiladores e nos casos em que os pacientes exibem algum comprometimento sistêmico que impossibilite a realização do tratamento cirúrgico. Porém, diante dos nossos resultados, a imunoexpressão dos GCRs e CTRs não pode ser considerado um parâmetro de seleção terapêutica para as LCCGs dos ossos maxilares. É importante lembrar que a mudança de fenótipo na expressão dos GCRs e CTRs nas células mononucleares e gigantes multinucleadas pode alterar a resposta ao tratamento e que a calcitonina não pode ser usada por longos períodos, já que tem sido relatado irresponsividade a droga com o tempo. Adicionalmente, assim como Dolonmaz et al. (2015), sugere-se que nos casos de LCCGs agressivas não responsivas às aplicações de triancinolona intralesional seja associado outro método de tratamento clínico ou remoção cirúrgica. Nos casos não responsivos ao tratamento clínico do presente estudo, foi realizada remoção cirúrgica da lesão com osteotomia periférica ou ressecção em bloco. Esse estudo suporta que esses tratamentos clínicos de fato podem ser métodos alternativos para tratar as LCCG e que mais estudos devem ser realizados para esclarecer melhor a resposta variada a essas terapias.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

- AGHBALI, A. et al. Correlation of Histopathologic Features with Demographic, Gross and Radiographic Findings in Giant Cell Granulomas of the Jaws. **Journal of dental research, dental clinics, dental prospects**. Tabriz, v.7, n.4, p.225-229, 2013.
- ALLON, D. M.; ANAVI. Y.; CALDERON , S. Central giant cell lesion of the jaw: nonsurgical treatment with calcitonin nasal spray. **Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics**. St. Louis, v.107, n.6, p.811-818, 2009.
- AMIRCHAGHMAGHI, M. et al. Central Giant cell granuloma of the Jaws: A clinical and radiographic study in Khorasan (Iran). **Journal of applied sciences**. New York, v.10, n.9, p. 777-780, 2010.
- BARNES, L. et al. **World Health Organization Classification of Tumours: pathology and genetics of tumours of the head and neck**. Lyon: IARC, 2005.
- BARNES, P. J. Mechanisms and resistance in glucocorticoid control of inflammation. **The Journal of steroid biochemistry and molecular biology**. Oxford, v.120, n.2-3, p.76-85, 2010.
- BORGES, H. O. et al. Calcitonin: a non-invasive giant cells therapy. **International journal of pediatric otorhinolaryngology**. Amsterdam, v.72, n.7, p.959-963, 2008.
- CARLOS, R.; SEDANO, H. O. Intralesional corticosteroids as an alternative treatment for central giant cell granuloma. **Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics**. St. Louis, v.93, n.2, p.161-166, 2002.
- CARVALHO, V. M. et al. Novel mutations in the SH3BP2 gene associated with sporadic central giant cell lesions and cherubism. **Oral diseases**. Copenhagen, v.15, p.106-110, 2009.
- CHUONG, R. et al. Central giant cell lesions of the jaws: a clinicopathologic study. **Journal of oral & maxillofacial surgery**. Philadelphia, v.44, n.9, p.708-713, 1986.
- DE LANGE, J. et al. Treatment of central giant cell granuloma of the jaw with calcitonin. **International journal of oral and maxillofacial surgery**. Copenhagen, v.28, n.5, p.372-6, 1999.

DE LANGE, J.; VAN DEN AKKER, H. P. Clinical and radiological features of central giant-cell lesions of the jaw. **Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics**. St. Louis, v.99, n.4, p.464-470, 2005.

DE LANGE, J.; VAN DEN AKKER, H. P.; VAN DEN BERG, H. Central giant cell granuloma of the jaw: a review of the literature with emphasis on therapy options. **Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics**. St. Louis, v.104, n.5, p. 603–615, 2007.

DOLANMAZ, D. et al. Management of central giant cell granuloma of the jaw with intralesional steroid injection and review of the literature. **Oral and maxillofacial surgery**. Berlin, 2015 [Epub ahead of print].

EDWARDS, P. C. Insight into the pathogenesis and nature of Central giant cell lesions of the jaws. **Medicina oral, patología oral y cirugía bucal**. Valencia, v.20, n.2, p.196-198, 2015.

EISENBUD, L. et al. Central giant cell granuloma of the jaws: experiences in the management of thirty-seven cases. **Journal of oral & maxillofacial surgery**. Philadelphia, v.46, n.5, p.376-384, 1988.

FERRETTI, C. et al. Management of central giant cell granuloma of mandible using intralesional corticosteroids: case report and review of literature. **Journal of oral and maxillofacial surgery**. Philadelphia, v.69, n.11, p.2824-2829, 2011.

FRANCO, R. L. et al. Granuloma de células gigantes: revisão de literatura. **Revista brasileira de patologia oral**. Natal, v. 2, p.10-16, 2003.

GOMES, A. C. A. et al. Lesão de células gigantes: um estudo retrospectivo de 58 casos. **Revista de cirurgia e traumatologia bucomaxilofacial**. Camaragibe, v.7, n. 2, p. 83-88, 2007.

GOMES, C. C. et al. The highly prevalent H3F3A mutation in giant cell tumours of bone is not shared by sporadic central giant cell lesion of the jaws. **Oral surgery, oral medicine, oral pathology and oral radiology**. New York, v.118, n.5, p.583-585, 2014.

HARRIS, M. Central giant cell granulomas of the jaws regress with calcitonin therapy. **British journal of oral and maxillofacial surgery**. Edinburgh, v.31, n.2, p.89-94, 1993.

ITONAGA, I. et al. Cellular mechanisms of osteoclast formation and lacunar resorption in giant cell granuloma of the jaw. **Journal of oral pathology and medicine**. Copenhagen, v.32, n.4, p.224-231, 2003.

JACOWAY, J. R.; HOWELL, F. V.; TERRY, B. C. Central giant cell granuloma: an alternative to surgical therapy. **Oral surgery, oral medicine, and oral pathology**. St. Louis, v.66, n. p.572, 1988.

JAFFE, H. L. Giant-cell reparative granuloma, traumatic bone cyst, and fibrous (fibro-oseous) dysplasia of the jawbones. **Oral surgery, oral medicine, and oral pathology**. St. Louis, v.6, n.1, p.159-175, 1953.

JAMSHIDI, S. et al. Jaw intraosseous lesions biopsied extracted from 1998 to 2010 in an iranian population. **Iranian red crescent medical journal**. Dubai, v.17, n.6, p.1-6, 2015.

KABAN, L. B. et al. Antiangiogenic therapy of a recurrent giant cell tumor of the mandible with interferon alfa-2a. **Pediatrics**. Springfield, v.103, n.6, p.1145-1149, 1999.

KABAN, L. B. et al. Antiangiogenic therapy with interferon al-pha for giant cell lesions of the jaws. **Journal of oral & maxillofacial surgery**. Philadelphia, v.60, n.10, p.1103-1111, 2002.

KAUZMAN, A. et al. Central giant cell granuloma of the jaws: assessment of cell cycle proteins. **Journal of oral pathology and medicine**. Copenhagen, v.33, n.3, p.170-176, 2004.

KRUSE-LÖSLER, B. et al. Central giant cell granuloma of the jaws: a clinical, radiologic, and histopathologic study of 26 cases. **Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics**. St. Louis, v.101, n.3, p.346-354, 2006.

MANOR, E. et al. Cytogenetics of Central Giant Cell Granuloma of the Mandible. **Journal of oral & maxillofacial surgery**. Philadelphia, v.71, n.9, p.1541-1544, 2013.

MARTINS, A. F. L. et al. Glucocorticoids, calcitonin, and osteocalcin cannot differentiate between aggressive and nonaggressive central giant cell lesions of the jaws. **Oral surgery, oral medicine, oral pathology and oral radiology**. New York, p.1-10, 2015.

NOGUEIRA, R. L. M. et al. Intralesional injection of triamcinolone hexacetonide as an alternative treatment for central giant cell granuloma in 21 cases. **International Journal of oral and maxillofacial surgery**. Copenhagen, v.39, n.12, p.1204–1210, 2010.

NOGUEIRA, R. L. M. et al. Glucocorticoid and calcitonin receptor expression in central giant cell lesions: implications for therapy. **International journal of oral and maxillofacial surgery**. Copenhagen, v.41, n.8, p.994–1000, 2012.

NOLETO, J. W. et al. Aspectos radiológicos e epidemiológicos do granuloma central de células gigantes. **Radiologia brasileira**. São Paulo, v.40, n.3, p.167–171, 2007.

O'MALLEY, M. et al. Central giant cell granulomas of the jaws: phenotype and proliferation-associated markers. **Journal of oral pathology and medicine**. Copenhagen, v.26, n.4, p.159-163, 1997.

O'REGAN, E. M.; GIBB, D. H.; ODELL, E. W. Rapid growth of giant cell granuloma in pregnancy treated with calcitonin. **Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics**. St. Louis, v.92, n.5, p.532-538, 2001.

OSTERNE, R. L. V. et al. Intralesional corticosteroid injections in the treatment of central giant cell lesions of the jaws: A meta-analytic study. **Medicina oral, patología oral y cirugía bucal**. Valencia, v.18, n.2, p. 226-232, 2013.

POGREL, M. A. et al. Calcitonin treatment for central giant cell granulomas of the mandible: report of two cases. **Journal of oral and maxillofacial surgery**. Copenhagen, v.57, n.7, p.848-853, 1999.

POGREL, M. A. Calcitonin therapy for central giant cell granuloma. **Journal of oral and maxillofacial surgery**. Philadelphia, v.61, n.6, p.649-653, 2003.

PONDEL, M. Calcitonin and calcitonin receptors: bone and beyond. **International journal of experimental pathology**. Oxford, v.81, n.6, p.405-422, 2000.

REDDY, V. et al. Incidence of central giant cell granuloma of the jaws with clinical and histological confirmation: an archival study in Northern India. **British journal of oral and maxillofacial surgery**. Edinburgh, v.50, n.7, p.668–672, 2012.

REGEZI, J. A.; SCIUBBA, J.; RICHARD, J. **Patologia Oral: correlações clinicopatológicas**. 6ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013.

REGEZI, J. A.; POGREL, A. Comments on the pathogenesis and medical treatment of central giant cell granuloma. **Journal of oral & maxillofacial surgery**. Copenhagen, v. 61, p.116-118, 2004.

SAMPIERI, M. B. S. et al. Central giant cell granuloma: treatment with calcitonin, triamcinolone acetonide, and a cystic finding 3 years and 6 months after the primary treatment. **Oral and maxillofacial surgery**. Berlin, v.17, n.3, p.229-234, 2012.

SHIRANI, G. et al. Management of a locally invasive central giant cell granuloma (CGCG) of mandible: report of an extraordinary large case. **Journal of cranio-maxillofacial surgery**. Edinburgh, v.39, n.7, p.530-533, 2011.

STAVROPOULOS, F.; KATZ, J. Central giant cell granulomas: a systematic review of the radiographic characteristics with the addition of 20 new cases. **Dentomaxillofacial radiology**. London, v.31, n.6, p.213-217, 2002.

TAMBUWALA, A.; PATIL, A.; AHMED, B. M. N. Intralesional corticosteroid injection for treatment of central giant-cell granuloma. **Journal of contemporary dentistry**. New Delhi, v.2, n.3, p.139-144, 2011.

TARSITANO, A. et al. Aggressive Central Giant Cell Granuloma of the Mandible Treated With Conservative Surgical Enucleation and Interferon- α -2a: Complete Remission With Long-Term Follow-Up. **Journal of oral & maxillofacial surgery**. Philadelphia, v. 73, n.11, p.2149-2154, 2015.

TIFFEE, J.C.; AUFDEMORTE, T.B. Markers for macrophage and osteoclast lineages in giant cell lesions of the oral cavity. **Journal of oral and maxillofacial surgery**. Philadelphia, v.55, n.10, p.1108–1112, 1997.

TÓBOM-ARROYABE, S. I. et al. Immunohistochemical expression of RANK, GR α , CTR in central giant-cell granuloma of the jaws. **Oral oncology**, Oxford, v.41, n.5, p.480-488, 2005.

TORABINIA, N.; RAZAVI, S. M.; SHOKROLAHI, Z.A comparative immunohistochemical evaluation of CD68 and TRAP protein expression in central and peripheral giant cell granulomas of the jaws. **Journal of oral pathology & medicine**. Copenhagen, v. 40, p. 334–337, 2011.

VERED, M.; BUCHNER, A.; DAYAN, D. Immunohistochemical expression of glucocorticoid and calcitonin receptors as a tool for selecting therapeutic approach in central giant cell granuloma of the jawbones. **Journal of oral and maxillofacial surgery**. Philadelphia, v.35, p.756-760, 2006a.

VERED, M.; BUCHNER, A.; DAYAN D. Giant cell granuloma of the jawbones – a proliferative vascular lesion? Immunohistochemical study with vascular endothelial growth factor and basic fibroblastic growth factor. **Journal of oral pathology and medicine**. Copenhagen, v.35, n.10, p.613-619, 2006b.

VERED, M. et al. Calcitonin nasal spray for treatment of central giant cell granuloma: Clinical, radiological, and histological findings and immunohistochemical expression of calcitonin and glucocorticoid receptors. **Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontology**. St. Louis, v.104, n.2, p.226-239, 2007.

WHITAKER, S. B.; WALDRON, C. A. Central giant cell lesions of the jaws. A clinical, radiologic, and histopathologic study. **Oral surgery, Oral medicine, and oral pathology**. St. Louis, v.75, n.2, p.199-208, 1993.

WOO, S.B. **Atlas de Patologia Oral**. 1^a ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013.

APÊNDICE–Termo de Consentimento Livre e Esclarecido



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
CURSO DE ODONTOLOGIA
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Este é um convite para o(a) senhor(a) participar da pesquisa “Imunoexpressão de receptores de calcitonina e corticosteróides em Lesões Centrais de Células Gigantes dos Ossos Maxilares: agressivas e não agressivas”, que é coordenada pela Profª. Drª. Éricka Janine Dantas da Silveira. Sua participação é voluntária, o que significa que o(a) senhor(a) poderá desistir a qualquer momento, retirando seu consentimento, sem que isso lhe traga nenhum prejuízo ou penalidade.

Essa pesquisa procura investigar se a presença de receptores para calcitonina e corticosteróides em uma série de casos de Lesões Centrais de Células Gigantes dos Ossos Maxilares agressivas e não agressivas, encontra-se associada em alguns casos à resposta favorável ao tratamento clínico com calcitonina ou triancinolona.

Caso decida aceitar o convite, o(a) senhor(a) não irá passar por nenhum outro procedimento clínico ou cirúrgico uma vez que este material já se encontra guardado no laboratório de Anatomia Patológica da disciplina de Patologia Oral do Departamento de Odontologia da UFRN e assim, não haverá qualquer desconforto. Assim, concordando em participar da pesquisa o(a) senhor(a) autorizará apenas o manuseio do material já recolhido durante a biópsia (retirada cirúrgica de material) realizada previamente.

Todas as informações obtidas serão sigilosas e seu nome não será revelado em nenhum momento. Os dados serão guardados em local seguro e a divulgação dos resultados será feita de forma a não identificar os voluntários.

Tendo em vista que a pesquisa será desenvolvida com material arquivado, não necessitando de qualquer intervenção no(a) senhor(a), o(a) senhor(a) o risco será mínimo, pois a pesquisa será realizada utilizando o material da lesão removido no tratamento cirúrgico da sua enfermidade, que ocorreu no passado sem nenhum vínculo com esta pesquisa. Enfatizamos que o tratamento executado no(a) senhor(a) à época do seu atendimento, é o indicado para o seu caso, portanto o(a) senhor(a) não será submetido(a) a mais nenhum procedimento terapêutico com a finalidade de participar desta pesquisa.

Os benefícios esperados com a realização desse estudo podem não ser diretamente aplicados no(a) senhor(a), mas certamente poderão contribuir para ampliar os conhecimentos a respeito da doença aqui estudada, especialmente com relação à contribuição para um maior entendimento sobre como se processa o desenvolvimento da doença em questão. Se houver algum gasto que seja devido à sua participação na pesquisa, o(a) senhor(a) será ressarcido, caso solicite. Em qualquer momento, se o(a) senhor(a) sofrer algum dano comprovadamente decorrente desta pesquisa, terá direito a indenização.

O(A) senhor(a) ficará com uma cópia deste Termo e qualquer dúvida a respeito desta pesquisa poderá ser esclarecida diretamente com a Profª. Drª. Éricka Janine Dantas da Silveira, no Departamento de Odontologia da UFRN, no endereço Av. Sen. Salgado Filho, nº 1787, Lagoa Nova, Natal – RN, ou pelo telefone (84) 3215-4138. Dúvidas a respeito da ética dessa pesquisa poderão ser questionadas ao Comitê de Ética em Pesquisa da UFRN, localizado no CampusUniversitário da UFRN, ou pelo telefone (84) 3215-3135.

CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Após ter sido esclarecido sobre os objetivos, importância e o modo como os dados serão coletados nessa pesquisa, além de conhecer os riscos, desconfortos e benefícios que ela trará pra mim e ter ficado ciente de todos os meus direitos, concordo em participar da pesquisa: “Imunoexpressão de receptores de calcitonina e corticosteróides em Lesões Centrais de Células Gigantes dos Ossos Maxilares: agressivas e não agressivas”, e autorizo a divulgação das informações por mim fornecidas em congressos e/ou publicações científicas desde que nenhum dado possa me identificar

Natal, ____/____/____



DECLARAÇÃO DO PESQUISADOR RESPONSÁVEL

Como pesquisador responsável pela pesquisa “Imunoexpressão de receptores de calcitonina e corticosteróides em Lesões Centrais de Células Gigantes dos Ossos Maxilares: agressivas e não agressivas”, declaro que assumo a inteira responsabilidade de cumprir fielmente os procedimentos metodologicamente e direitos que foram esclarecidos e assegurados ao participante deste estudo, assim como manter a confidencialidade e sigilo sobre a identidade do mesmo.

Declaro ainda estar ciente que na inobservância do compromisso ora assumido estarei infringido as normas e diretrizes propostas pela Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde – CNS que regulamenta pesquisas envolvendo seres humanos.


Natal, ____/____/____

Profª. Drª. Éricka Janine Dantas da Silveira

Pesquisadora Responsável

Av. Sen. Salgado Filho, nº 1787, Lagoa Nova, Natal/RN, CEP: 59056-000

ANEXO - Certificado de Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE / UFRN CAMPUS CENTRAL									
PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP									
DADOS DO PROJETO DE PESQUISA									
Título da Pesquisa: IMUNOEXPRESSION DE RECEPTORES DE CALCITONINA E CORTICOSTERÓIDES EM LESÕES CENTRAIS DE CÉLULAS GIGANTES DOS OSSOS MAXILARES: AGRESSIVAS E NÃO AGRESSIVAS									
Pesquisador: Érika Janine Dantas da Silveira									
Área Temática:									
Versão: 2									
CAAE: 43894715.0.0000.5537									
Instituição Proponente: Pós-Graduação em Patologia Oral									
Patrocinador Principal: Financiamento Próprio									
DADOS DO PARECER									
Número do Parecer: 1.092.596									
Data da Relatoria: 29/05/2015									
Apresentação do Projeto: Trata-se de um projeto de mestrado, vinculado ao Programa de Pós-Graduação em Patologia Oral e ao Departamento de Odontologia da UFRN. Tem por objetivo geral analisar a presença de receptores de calcitonina e glicocorticoide através do estudo imuno-histoquímico em uma série de casos de lesões centrais de células gigantes (LCCG) agressivas e não agressivas, comparando tal imunexpressão em alguns casos de LCCG agressivas responsivas e não responsivas ao tratamento clínico. A população será constituída de todos os casos de LCCG registrados e diagnosticados no serviço de Histopatologia da Disciplina de Patologia Oral e outros casos de LCCG cedidos por outros serviços no período de janeiro de 1990 a dezembro de 2014. A amostra selecionada de forma intencional e por conveniência para este estudo compreenderá 25 casos de LCCG agressivas e de 25 casos de LCCG não agressivas. Após seleção, serão coletados dados clínicos, radiográficos para classificação das lesões em agressivas e não agressivas a partir da análise dos prontuários e documentos. Posteriormente, os espécimes serão cortados para serem submetidos a técnica imunohistoquímica onde serão utilizados os anticorpos anti-calcitonina e antiglicocorticoide. As lâminas serão analisadas por examinadores cegos para classificação clínica da lesão. Os benefícios da pesquisa estão relacionados à contribuição para ampliar os conhecimentos em relação a presença ou não de receptores para calcitonina e glicocorticoide em lesões centrais de									
<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="border: none;">Endereço: Av. Senador Salgado Filho, 3000</td> <td style="border: none; text-align: right;">CEP: 59.078-070</td> </tr> <tr> <td style="border: none;">Bairro: Lagoa Nova</td> <td style="border: none;"></td> </tr> <tr> <td style="border: none;">UF: RN Município: NATAL</td> <td style="border: none;"></td> </tr> <tr> <td style="border: none;">Telefone: (84)3215-3135</td> <td style="border: none; text-align: right;">E-mail: cepufm@reitoria.ufrn.br</td> </tr> </table>		Endereço: Av. Senador Salgado Filho, 3000	CEP: 59.078-070	Bairro: Lagoa Nova		UF: RN Município: NATAL		Telefone: (84)3215-3135	E-mail: cepufm@reitoria.ufrn.br
Endereço: Av. Senador Salgado Filho, 3000	CEP: 59.078-070								
Bairro: Lagoa Nova									
UF: RN Município: NATAL									
Telefone: (84)3215-3135	E-mail: cepufm@reitoria.ufrn.br								

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
RIO GRANDE DO NORTE /
UFRN CAMPUS CENTRAL



Continuação do Parecer: 1.092.596

relação a presença ou não de receptores para calcitonina e glicocorticóide em lesões centrais de células gigantes agressivas e não agressivas e isso evidenciará se tais lesões possuem expressão para estes receptores que são drogas utilizadas para tratamento clínico das mesmas, servindo como base para escolha futura da utilização ou não deste tipo de tratamento.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de uma pesquisa relevante para área, especialmente pelos possíveis benefícios relacionados a contribuição para ampliar os conhecimentos a respeito da doença estudada e a resposta ao tratamento da doença. A patogênese desta lesão ainda não está completamente esclarecida, existem diferentes tratamentos, sendo o mais realizado o cirúrgico, variando desde curetagem para as lesões não agressivas a ressecção em bloco para as agressivas, o que pode gerar grandes deformidades faciais, além de perdas funcionais. Por isso, que têm sido proposta nos últimos anos outras modalidades terapêuticas não cirúrgicas, como a utilização de corticóides intra-lesionais, interferon e de calcitonina nasal. Desta forma, torna-se importante a realização desta pesquisa que busca verificar se tais lesões incluem os receptores específicos de calcitonina e glicocorticóide, para que de fato essa terapia possa ser utilizada com maior frequência na prática clínica.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Estão adequados na atual versão do protocolo de pesquisa.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Após análise ética e científica das respostas às pendências observadas no Parecer Consubstanciado n.º 1.042.200, datado de 24/04/2015, esse Colegiado verificou que o tamanho da amostra e a forma de recrutamento dos participantes tiveram melhor esclarecimento na versão atual do protocolo de pesquisa, bem como os riscos e benefícios da pesquisa e o tipo de estudo foram descritos de forma satisfatória, permitindo a inclusão do referido protocolo na categoria de APROVADO, com base nos preceitos éticos regulatórios das pesquisas com seres humanos no Brasil.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Av. Senador Salgado Filho, 3000
Bairro: Lagoa Nova CEP: 59.078-970
UF: RN Município: NATAL
Telefone: (84)3215-3135 E-mail: cepufm@reitoria.ufrn.br